

20. 4. 2004

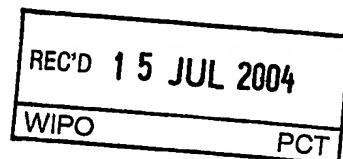
日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 2003年 4月21日
Date of Application:

出願番号 特願2003-116232
Application Number:
[ST. 10/C] : [JP2003-116232]



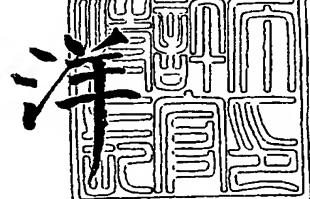
出願人 独立行政法人理化学研究所
Applicant(s):

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 7月 2日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

八月



【書類名】 特許願
【整理番号】 P03-0029
【提出日】 平成15年 4月21日
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 C07D487/22
【発明者】
【住所又は居所】 東京都練馬区大泉学園町 8-32-16-205
【氏名】 磯貝 泰弘
【発明者】
【住所又は居所】 埼玉県朝霞市幸町 1-3-29-101
【氏名】 石田 学
【特許出願人】
【識別番号】 000006792
【氏名又は名称】 理化学研究所
【代理人】
【識別番号】 100092783
【弁理士】
【氏名又は名称】 小林 浩
【電話番号】 03-3273-2611
【選任した代理人】
【識別番号】 100095360
【弁理士】
【氏名又は名称】 片山 英二
【選任した代理人】
【識別番号】 100093676
【弁理士】
【氏名又は名称】 小林 純子

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 157061

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 ビオチニル基含有ポルフィリン化合物及びその用途

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記式(I)：

P_or-A-B_i

(式中、P_orは、金属錯体を形成してもよいポルフィリン残基；B_iは置換されていてもよいビオチニル基；そして、Aは1～30個の炭素原子を有するヒドロカルビル基、又は、酸素原子、硫黄原子及び窒素原子から選ばれる1～10個のヘテロ原子を有し、かつ1～30個の炭素原子を有するヘテロヒドロカルビル基を示す)

で表されるビオチニル基含有ポルフィリン化合物。

【請求項2】 前記P_orが、ヘムa、ヘムb、ヘムc、バリアントヘムc、ヘムd、ヘムd1、シロヘム及びヘムoから選択される金属錯体を形成したポルフィリンの残基である前記請求項1に記載の化合物。

【請求項3】 前記P_orが、ヘムbの残基である前記請求項1又は2に記載の化合物。

【請求項4】 前記P_orが、ウロポルフィリン(I型)、ウロポルフィリン(II型)、コプロポルフィリン(III型)、プロトポルフィリン(IX型)及びヘマトポルフィリン(IX型)から選択されるポルフィリンの残基である前記請求項1に記載の化合物。

【請求項5】 前記B_iが、ビオチニル基である前記請求項1～4のいずれかに記載の化合物。

【請求項6】 前記Aが、炭素原子1個から20個を有する直鎖状又は分枝鎖状アルキレン基であり、そのアルキレン基中の1又は2以上の隣接しないCH₂基が-NH-、-NH-NH-、-NHCO-、-CONH-、-N(C₁₋₃アルキル)-、-O-、-S-、-CO-、-O-CO-、-S-CO-、-O-COO-、-CO-S-、-CO-O-、-CH(ハロゲン)-、-CH(CN)-、-CH=CH-、-NH-NH-CO-又は-CO-NH-NH-で置換されていてもよい基である、前記請求項1～5のいずれかに記載の化合物。

【請求項7】前記Aが、

—NH—NH—、
 —NH—NH—CO—(CH₂)_n—NH—、
 —NH—NH—CO—(CH₂)_n—NH—CO—(CH₂)_n—NH—、
 —NH—(CH₂)_n—NH—、
 —NH—NH—CO—(CH₂)_n—NH—、
 —NH—NH—CO—(CH₂)_n—CO—NH—NH—、
 —NH—(CH₂)_n—CO—NH—NH—、及び
 —NH—(CH₂)_n—CO—NH—(CH₂)_n—CO—NH—NH—

(これらの式中、各nは独立して1～10)から選択される、前記請求項1～6のいずれかに記載の化合物。

【請求項8】請求項1に記載の化合物を製造する方法であって、金属錯体を形成してもよいポルフィリンと末端アミノ化ビオチニル基含有化合物とカップリング剤の存在下反応させることを含む、ビオチニル基含有ポルフィリン化合物の製造方法。

【請求項9】請求項1に記載の化合物を用いたアフィニティーコロマトグラフィーを行う工程を含む、ヘムタンパク質の精製方法。

【請求項10】請求項1に記載の化合物、及びアビジン化合物を結合させてなる担体ビーズを含むヘムタンパク質の精製キット。

【請求項11】請求項1に記載の化合物であるヘムタンパク質用標識化合物。

【請求項12】請求項11に記載の標識化合物を用いてヘムタンパク質を検出する方法。

【請求項13】請求項11に記載の標識化合物を含有する、ヘムタンパク質関連疾患の診断薬。

【請求項14】請求項4に記載の化合物を含有する、光力学療法用治療薬。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、ビオチニル基含有ポルフィリン化合物に関し、より詳しくは、生体

中の微量ヘムタンパク質の精製を迅速かつ簡便に行うことのできるビオチニル基含有ポルフィリン化合物に関する。本発明は、そのようなビオチニル基含有ポルフィリン化合物を用いた、ヘムタンパク質の精製方法及び精製装置、ヘムタンパク質用標識試薬、その試薬を用いるヘムタンパク質の検出方法及びヘムタンパク質関連疾患の診断薬、並びに上記ビオチニル基含有ポルフィリン化合物を含有する光力学療法用治療薬にも関する。

【0002】

【従来の技術】

「プロトヘム」あるいは単に「ヘム」と呼ばれる鉄プロトポルフィリンIXは、酵素、酸素運搬体、さらにはバイオセンサーのような数多くのタンパク質の活性中心として種々の役割を演じている (A. Messerschmidt, R. Huber, T. Poulo s, K. Wieghardt (Eds) Handbook of Metalloproteins Vol. 1, John Wiley & Sons, New York, 2001等参照)。そのため、これらの生理的機能を研究するにはヘムタンパク質の検出と分離が重要である。

【0003】

従来、アフィニティクロマトグラフィーの担体としてヘミンアガロースが、ヘムタンパク質の精製に用いられてきた (Tsutsui & Mueller, Analytical Bioc hemistry 121, 244-250, 1982: 非特許文献1)。しかしながら、このような従来法には、ヘミンに結合しているアガロースとタンパク質との非特異的結合が無視できないという問題がある。その上、アガロースが大きく粒子状であるために、容量あたりのタンパク質結合容量が小さく、ヘムタンパク質との特異的結合を分光学的に検出するのが困難である。また、ヘミンアガロースは、ヘムタンパク質の標識には利用することができないという欠点もある。

一方、最近では、ポルフィリンなどの光活性化剤を患者に投与した後に、治療部位に光を照射してそのポルフィリンを活性化することによって悪性腫瘍や慢性関節リウマチなどの疾患を治療するという、光力学療法 (PDT) も開発されている (特表平10-508577号公報: 特許文献1)。しかしながら、治療部位に効率的に光活性化剤を供給することができる PDT 用治療薬は未だ知られていない。

【0004】

【特許文献1】

特表平10-508577号公報

【非特許文献1】

Tsutsui & Mueller, Analytical Biochemistry 121, 244-250, 1982

【0005】

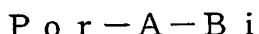
【発明が解決しようとする課題】

このような事情から、ヘムタンパク質の精製を簡易かつ迅速に行うことができるヘムタンパク質の精製法が望まれている。また、生体中のヘムタンパク質（又はヘムタンパク代謝酵素）などの挙動を研究するために、これらのタンパク質を標識化し得る試薬が望まれている。さらに、より効率的な光力学療法用治療薬も望まれている。

【0006】

【課題を解決するための手段】

本発明は、上記従来技術の問題を解決するためになされたもので、本発明の第1の態様によれば、下記式（I）：



(式中、 $\text{P}_{\text{o}}\text{r}$ は金属錯体を形成してもよいポルフィリン残基； B_{i} は置換されてもよいビオチニル基；そして、Aは1～30個の炭素原子を有するヒドロカルビル基、又は、酸素原子、硫黄原子及び窒素原子から選ばれる1～10個のヘテロ原子を有し、かつ1～30個の炭素原子を有するヘテロヒドロカルビル基を示す)

で表されるビオチニル基含有ポルフィリン化合物が提供される。好ましくは、前記 $\text{P}_{\text{o}}\text{r}$ は、ヘムa、ヘムb（プロトヘムIX）、ヘムc、バリアントヘムc、ヘムd、ヘムd1、シロヘム（Sirohaem）、ヘムo等の鉄-ポルフィリン誘導体から選択される金属錯体を形成したポルフィリン（ヘム）の残基である。さらに好ましくは、前記 $\text{P}_{\text{o}}\text{r}$ は、ヘムbの残基である。また、他の好ましい態様によれば、前記 $\text{P}_{\text{o}}\text{r}$ は、ウロポルフィリン（I型）、ウロポルフィリン（II型）、コプロポルフィリン（III型）、プロトポルフィリン（IX型）及びヘマト

ポルフィリン（IX型）から選択されるポルフィリンの残基である。なお、前記Biは、好ましくはビオチニル基である。

【0007】

本発明において、前記Aは、好ましくは、炭素原子1個から20個を有する直鎖状又は分枝鎖状アルキレン基であり、そのアルキレン基中の1又は2以上の隣接しないCH₂基が-NH-、-NH-NH-、-NHCO-、-CONH-、-N(C₁₋₃アルキル)-、-O-、-S-、-CO-、-O-CO-、-S-CO-、-O-COO-、-CO-S-、-CO-O-、-CH(ハロゲン)-、-CH(CN)、-CH=CH-、-NH-NH-CO-又は-CO-NH-NH-で置換されていてもよい基である。

【0008】

本発明において、前記Aは、より好ましくは、

- NH-NH-、
- NH-NH-CO-(CH₂)_n-NH-、
- NH-NH-CO-(CH₂)_n-NH-CO-(CH₂)_n-NH-、
- NH-(CH₂)_n-NH-、
- NH-NH-CO-(CH₂)_n-NH-、
- NH-NH-CO-(CH₂)_n-CO-NH-NH-、
- NH-(CH₂)_n-CO-NH-NH-、及び
- NH-(CH₂)_n-CO-NH-(CH₂)_n-CO-NH-NH-

(これらの式中、各nは独立して1~10、好ましくは3~7を示す)から選択される。

【0009】

本発明の第2の態様によれば、上記式(I)のビオチニル基含有ポルフィリン化合物を製造する方法であって、金属錯体を形成してもよいポルフィリンと末端アミノ化ビオチニル基含有化合物とカップリング剤の存在下反応させることを含む、ビオチニル基含有ヘム化合物の製造方法が提供される。

また、本発明の第3の態様によれば、上記式(I)のビオチニル基含有化合物を用いたアフィニティークロマトグラフィーを行う工程を含む、ヘムタンパク質

の精製方法が提供される。

また、本発明の第4の態様によれば、上記式(1)の化合物、及びアビジン化合物を結合させてなる担体ビーズを含むヘムタンパク質の精製キットが提供される。

また、本発明の第5の態様によれば、上記式(I)のビオチニル基含有化合物に標識物質を結合させてなるヘムタンパク質用標識化合物が提供される。

また、本発明の第6の態様によれば、上記標識化合物を用いてヘムタンパク質を検出する方法が提供される。

また、本発明の第7の態様によれば、上記標識化合物を含有する、ヘムタンパク質関連疾患の診断薬も提供される。

さらに、本発明の第8の態様によれば、式(I)においてP or がポルフィリン残基である化合物を含有する、光力学療法用治療薬が提供される。

【0010】

なお、本発明は、ストレプトアビジンとの高い親和性によって生体高分子の標識と単離に広く利用されているビオチンを、多くのタンパク質中で補欠分子として働いているヘムに結合させた化合物に関するものである。この分子を利用するこことによって、生体中のヘムタンパク質の標識、単離、微量精製をそれぞれワンステップで迅速に行うことができる。本発明のビオチン基含有ポルフィリン化合物は、単独でタンパク質に結合させた後、種々のアビジン誘導体と結合できるので、上記したヘミンアガロースを用いた従来法の問題を全て解決できる。

【0011】

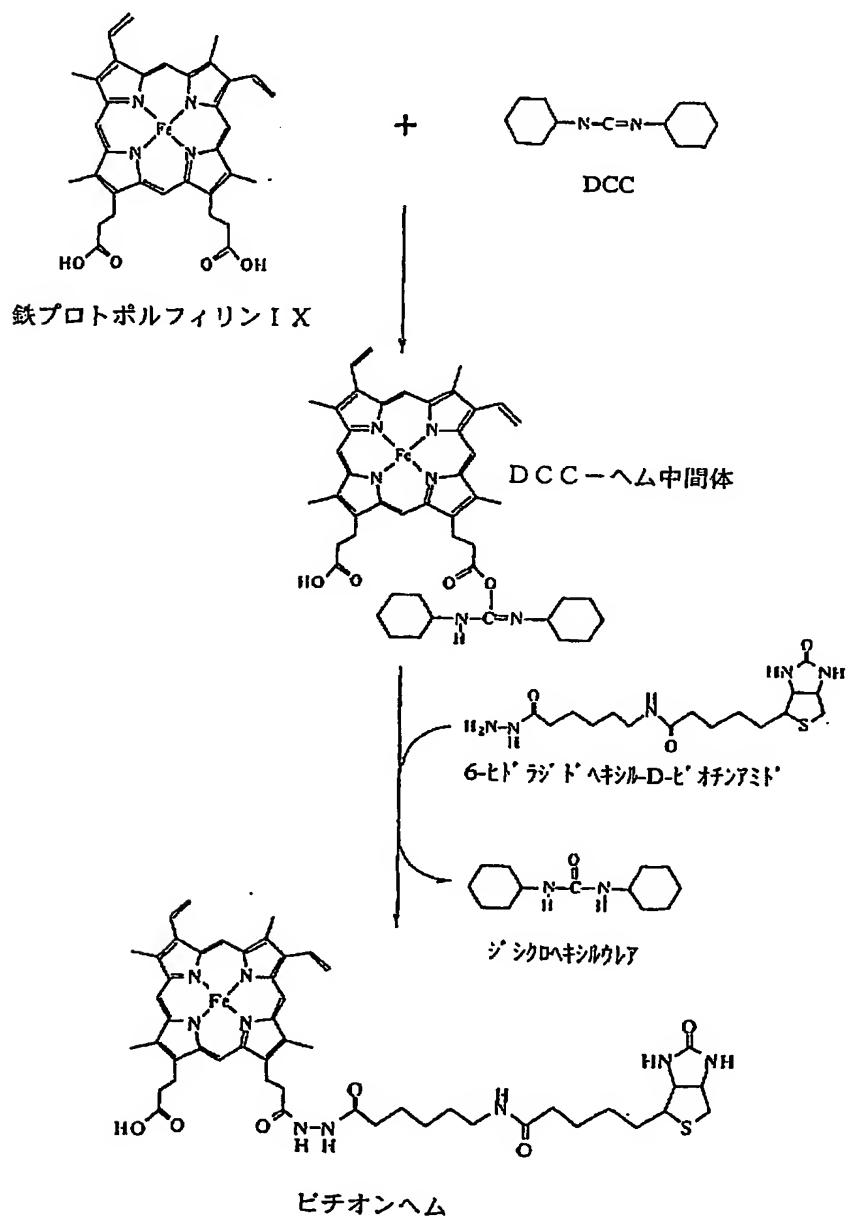
本明細書中、「ポルフィリン」とは、環状テトラピロールで、4個のピロールが、4個のメチン基により結合閉環したポルフィンの誘導体をいい、例えば、ウロポルフィリン(I型)、ウロポルフィリン(II型)、コプロポルフィリン(III型)、プロトポルフィリン(IX型)、ヘマトポルフィリン(IX型)などが挙げられる。金属錯体を形成したポルフィリンとしては、ヘムが好適なものとして例示される。

【0012】

本明細書中、「ヘム」とは、ポルフィリン類(誘導体)と主にI I価又はI I

I価の鉄の配位化合物をいい、鉄ポルフィリン、ヘマチンと呼ばれることがある。本発明において使用されるヘムとしては、特に限定されないが、例えば、下記に示すような、ヘムa、ヘムb（プロトヘムIX）、ヘムc、バリアントヘムc、ヘムd、ヘムd1、シロヘム（Sirohaem）、ヘムo等の天然ヘムが用いられる（A. Messerschmidt, R. Huber, T. Poulos, K. Wieghardt (Eds) Handbook of Metalloproteins Vol. 1, John Wiley & Sons, New York, 2001等参照）。

【化1】



【0013】

上記式中の、X、Y及びZはそれぞれ下表に示すとおりである。

	X	Y	Z
ヘム b	-CH=CH ₂	-CH=CH ₂	-CH ₃
ヘム c	-C(CH ₃)H-SR ^b	-C(CH ₃)H-SR ^b	-CH ₃
バリアントヘム c	-CH=CH ₂	-C(CH ₃)H-SR ^b	-CH ₃
ヘム a	-CH(OH)-CH ₂ R' ^c	-CH=CH ₂	-CHO
ヘム d	上記 (B)		
ヘム d 1	上記 (C)		
シロヘム	上記 (D)		
ヘム o	-CH(OH)-CH ₂ R' ^c	-CH=CH ₂	-CH ₃

なお、SR^b=-CH₂-C(NH-)H-CO-、R'^c=-[CH₂CH=C(CH₃)CH₂]₃H

【0014】

また、本発明においては、上記天然ヘムに限らず、各種の公知の合成ヘムを用いることもできる。そのような合成ヘムは、例えば、David Dolphin ed., The Porphyrins, Vol. 1-5, Academic Press, New York, 1978に記載されている。

【0015】

本明細書中、「ヘムタンパク質」は、上記のようなヘムに結合し得るタンパク質（ヘムタンパク代謝酵素を含む）をいい、例えば、ヘモグロビン、ミオグロビン、シトクロム、ペルオキシダーゼ、カタラーゼなどが挙げられる。

【0016】

本明細書中、「ヒドロカルビル基」は、飽和若しくは不飽和の非環式であってもよいし、飽和若しくは不飽和の環式であってもよい置換又は非置換の炭化水素基をいい、非環式の場合には、線状でもよいし、枝分かれしていてもよい。C₁～C₂₀炭化水素基としては、例えば、C₁～C₂₀アルキル基、C₂～C₂₀アルケニル基、C₂～C₂₀アルキニル基、C₁～C₂₀アルコキシ基、C₁～C₂₀アシル基、C₄～C₂₀アルキルジエニル基、C₄～C₂₀ポリエニル基、C₆～C₁₈アリール基、C₇～C₂₀アルキルアリール基、C₇～C₂₀アリールアルキル基、C₄～C₂₀シクロアルキル基、C₄～C₂₀シクロアルケニル基、(C₃～C₁₀シクロアルキル)

C₁～C₁₀アルキル基などが挙げられる。なお、本発明においてヒドロカルビル基がスペーサーとして用いられる場合は、上記基から1個の水素原子が除かれた2価の基をいう。

【0017】

本明細書中、「アルキル基」とは、線状でもよいし、枝分かれしてもよいアルキル基であり、例えば、メチル基、エチル基、プロピル基、n-ブチル基、t-ブチル基、ペンチル基、ヘキシル基などが挙げられる。なお、式中のAとして、アルキル基が選択される場合は、実際にはこれらの基から1個の水素原子が除かれたアルキレン基がスペーサーとして用いられる。アルキレン基としては、例えば、メチレン基、エチレン基、プロピレン基、ブチレン基、ペンチレン基、ヘキシレン基などが挙げられる。

【0018】

本明細書中、「アルケニル基」としては、1～3個の2重結合を有する炭素数2～20、より好ましくは2～10の直鎖または分岐鎖のアルケニル基が挙げられ、具体的には、エテニル、1-プロペニル、2-プロペニル、1-メチルエテニル、1-ブテニル、2-ブテニル、3-ブテニル、2-メチル-2-プロペニル、1-ペンテニル、2-ペンテニル、4-ペンテニル、3-メチル-2-ブテニル、1-ヘキセニル、2-ヘキセニル、1-ヘプテニル、2-ヘプテニル、1-オクテニル、2-オクテニル、1, 3-オクタジエニル、2-ノネニル、1, 3-ノナジエニル、2-デセニル等が挙げられる。

【0019】

「アリール基」としては、例えば、フェニル基、1-ナフチル基または2-ナフチル基などのナフチル基、2-インデニル基などのインデニル基、2-アンスリル基などのアンスリル基、2-トリル基、3-トリル基、4-トリル基などのトリル基、ビフェニル基などが挙げられる。

【0020】

本明細書中、「ヘテロヒドロカルビル基」は、上記ヒドロカルビル基に、さらに、窒素原子、酸素原子及び硫黄原子から選ばれる1以上のヘテロ原子を含む基をいい、例えば、炭素原子1個から20個を有する直鎖状又は分枝鎖状アルキレ

ン基であり、そのアルキレン基中の1又は2以上の隣接しないCH₂基が-NH-、-NH-NH-、-NHCO-、-CONH-、-N(C₁₋₃アルキル)-、-O-、-S-、-CO-、-O-CO-、-S-CO-、-O-COO-、-CO-S-、-CO-O-、-CH(ハロゲン)-、-CH(CN)-、-CH=CH-、-NH-NH-CO-又は-CO-NH-NH-で置換されていてもよい基等が挙げられる。

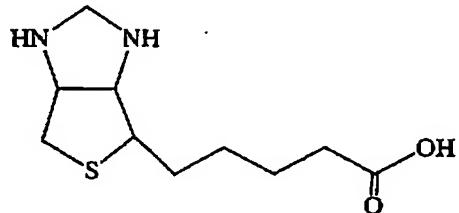
【0021】

また、炭化水素基、複素環基などに置換され得る基としては、例えば、ハロゲン原子(例、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素など)、ニトロ基、シアノ基、ハロゲン化されていてもよいC₁₋₆アルキル基等が挙げられる。

【0022】

本明細書中、「ビオチニル基」とは、下記に示すビオチンの如何なる残基をも示すが、狭義では、下記ビオチンの水酸基を除いたビオチン残基をいう。

【化2】



本発明におけるビオチン残基は、ヘムタンパク質の精製・標識化などの妨げとならない限り、如何なる置換基を有していてもよい。そのような置換基としては、例えば、ハロゲン原子(例、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素など)、ニトロ基、シアノ基、ハロゲン化されていてもよいC₁₋₆アルキル基が挙げられる。

【0023】

【発明の実施の形態】

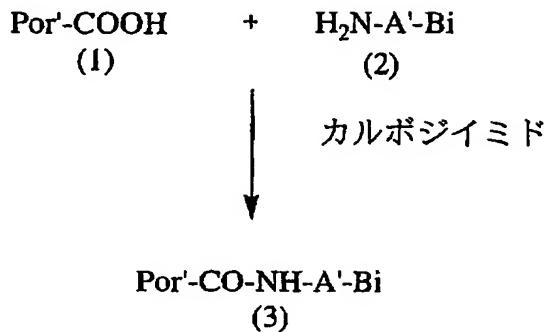
(製造方法)

本発明のビオチニル基含有ポルフィリン化合物は、例えば、下記スキーム(1)に示す方法によって合成することができる。

【0024】

スキーム（1）

【化3】



(式中、Por'は、金属錯体を形成してもよいポルフィリンからカルボキシ基1個を除いた残基を示し；A'はスペーサー基を示し；そして、Biはビオチニル基を示す。)

【0025】

上記スキーム（1）において、化合物（1）と末端アミノ化ビオチニル化合物（2）とを、カルボジイミド類等のカップリング剤の存在下反応させて、目的とするビオチニル基含有ポルフィリン化合物（3）を得る。末端アミノ化ビオチニル化合物としては、ビオチンヒドラジド、6-ヒドラジドヘキシル-D-ビオチニアミド、6-(6-ヒドラジドヘキシル)アミドヘキシル-D-ビオチニアミド（これらは市販の公知化合物）等のヒドラジド化ビオチニル化合物が好ましい。この反応は、通常、適当な溶媒の存在下、0℃～100℃、好ましくは10℃～40℃、0.5時間～48時間、好ましくは1～24時間行う。

ここで、最終生成物として金属錯体（例えば、ビオチニル基含有ヘム化合物）を得る場合には、ポルフィリンの金属錯体（例えば、ヘム）と末端アミノ化ビオチニル化合物とをカップリング剤の存在下で反応させてもよく、あるいは、ポルフィリンと末端アミノ化ビオチニル化合物とをカップリング剤の存在下で反応させた後に金属（イオン）と反応させて金属錯体とすることもできる。

なお、スキーム（I）では、ポルフィリン（1）は、カルボキシ基を1個有するように模示したが、実際には、複数のカルボキシ基を有する場合がある。例えば、本発明が目的とするヘム化合物は、ビオチニル基が1個ヘムに結合すること

が好ましい。したがって、対象とするヘムが有するカルボキシ基の数に応じて、出発物質の使用量を調整する必要がある。例えば、鉄プロトポルフィリンIXは、2個のカルボキシ基を有している。ゆえに、ポルフィリン(1)として鉄プロトポルフィリンIXを用いる場合は、ヒドラジド化ビオチニル化合物(2)に対して、ポルフィリン(1)を2当量以上、好ましくは2.5当量以上用いると鉄プロトポルフィリンIXのカルボキシ基1個のみにビオチニル化合物がヒドラジド基を介して結合した化合物が得られる。

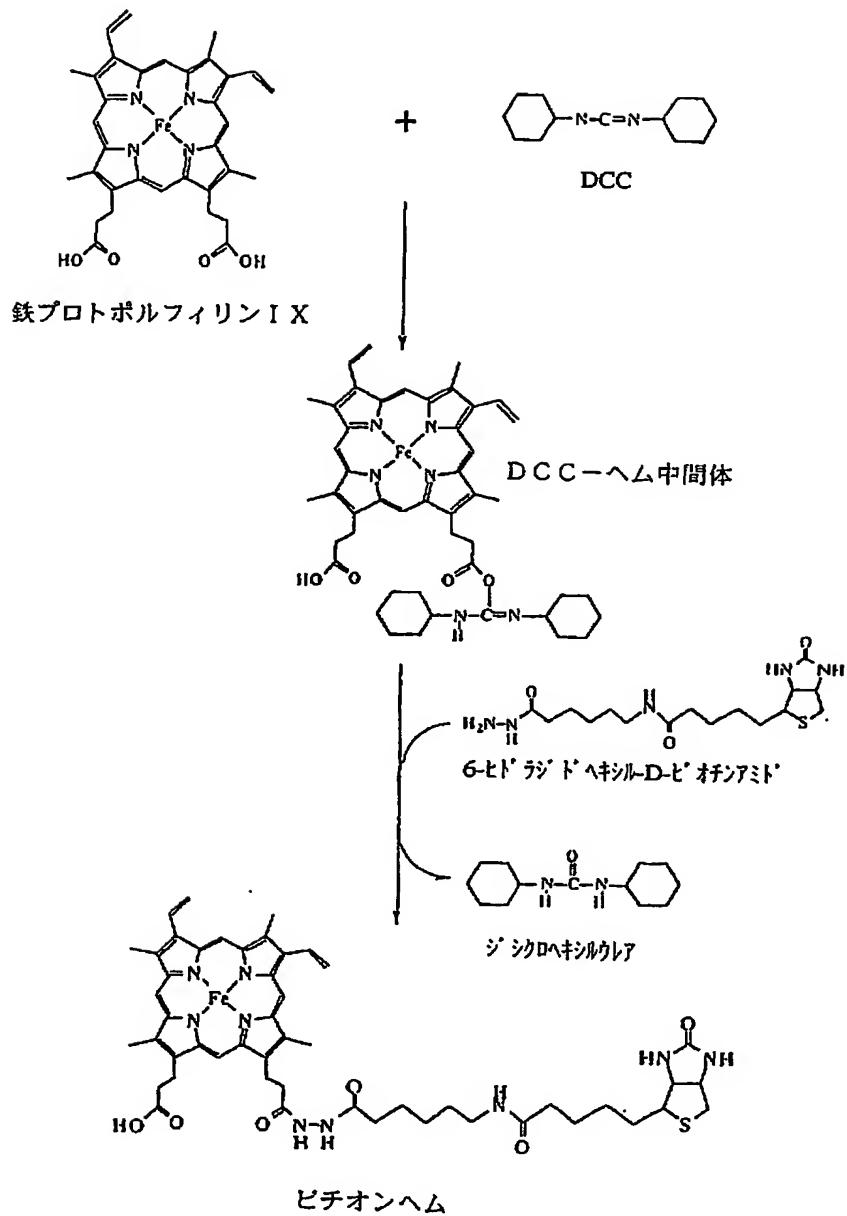
【0026】

参考のため、上記カップリング反応のメカニズムを説明するために、鉄プロトポルフィリンIXと6-ヒドラジドヘキシル-D-ビオチニアミドを、ジカルボキシイミドの存在下に反応させて、ビオチニル基含有ポルフィリン化合物を得た例をスキーム(2)に示す。

【0027】

スキーム(2)

【化4】



【0028】

この反応において用いられるカップリング剤としては、例えば、N, N' - 一二ジシクロヘキシカルボジイミド (DCC)、N' - (3-ジメチルアミノプロピル) - N - エチルカルボジイミド (DIC)、1 - エチル - 3 - (3-ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド、N - アリル - N' - (β -ヒドロキシエチル) カルボジイミド、N - (α -ジメチルアミノプロピル) - N' - (β -プロモ

アリル)カルボジイミド、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-(6-ベンゾイルアミノヘキシル)カルボジイミド、シクロヘキシル- β -(N-メチルモルフォリノ)エチルカルボジイミド、エチル-1,2-ジヒドロ-2-エトキシキノリン-1-カルボキシラート(EDQ)、イソプチル-1,2-ジヒドロ-2-イソブトキシ-1-キノリンカルボキシラート(IDQ)、1-ベンゾトリアゾリルオキシトリス(ジメチルアミノ)-ホスホニウムヘキサフルオロホスファート(HBTU)、O-[シアノ-(エトキシカルボニル)-メチリデン]-アミノ]-1,1,3,3-テトラメチルウロニウム-テトラフルオロボラート(TOTU)、プロパンホスホン酸無水物(PPA)、3-ジメチルアミノホスフィノチオイル-2(3H)-オキサゾロン(MPTO)等が挙げられる。

【0029】

また、この反応で用いられる適当な溶媒は、この反応で使用される溶媒としては、反応が進行する限り特に限定されないが、例えば、ピリジン、ルチジン、キノリン等の芳香族アミン類；ジクロロメタン、クロロホルム、1,2-ジクロロエタン、四塩化炭素等のハロゲン化炭化水素類；ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン等の脂肪族炭化水素類；ベンゼン、トルエン、キシレン、クロロベンゼン等の芳香族炭化水素類；ジエチルエーテル、ジイソプロピルエーテル、ジフェニルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン、1,2-ジメトキシエタン等のエーテル類；N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド等のアミド類またはこれら二種以上の混合物等が挙げられる。上記反応で特に好ましい溶媒は、ジメチルホルムアミド(DMF)、ジメチルスルホキシド(DMSO)及びこれらの混合物である。

【0030】

上記反応において、「塩基」が用いられる場合は、例えば、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸セシウム、などの塩基性塩類、水酸化ナトリウム、水酸化カリウムなどの無機塩基類、ピリジン、ルチジンなどの芳香族アミン類、トリエチルアミン、トリプロピルアミン、トリブチルアミン、シクロヘキシルジメチルアミン、4-ジメチルアミノピリジン、N,N-ジメチルアニリン、N-メチルピ

ペリジン、N-メチルピロリジン、N-メチルモルホリンなどの第3級アミン類、水素化ナトリウム、水素化カリウムなどのアルカリ金属水素化物類、ナトリウムアミド、リチウムジイソプロピルアミド、リチウムヘキサメチルジシラジドなどの金属アミド類、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、カリウムtert-ブトキシドなどの金属アルコキシド類などから選択される。

【0031】

なお、上記の反応によって得られる最終生成物は、濃縮、溶媒抽出、分溜、結晶化、再結晶、クロマトグラフィーなどの公知の手段によって反応混合物から単離、精製することができる。

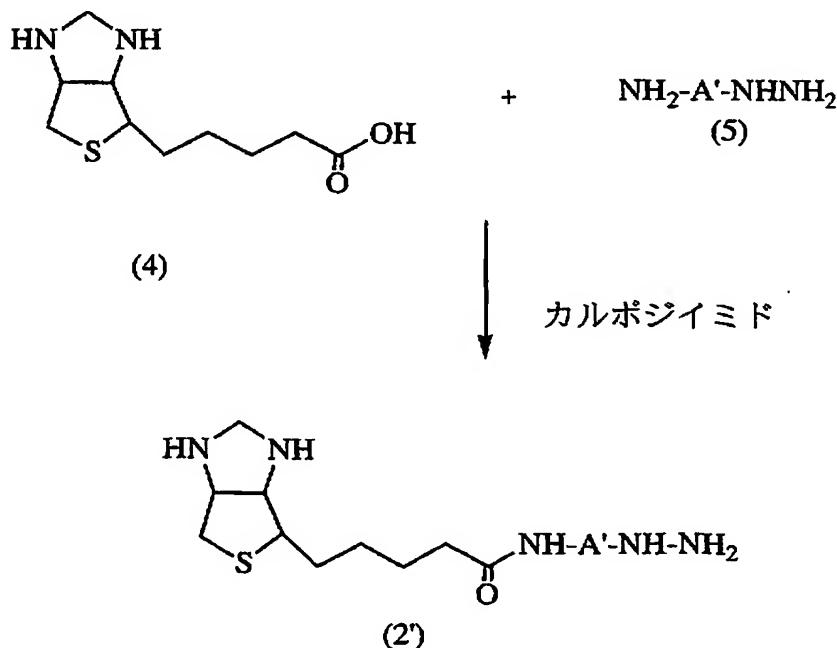
【0032】

上記した末端アミノ化ビオチニル基含有化合物(2)は、例えば、下記スキーム(3)に示す反応で合成することができる。

【0033】

スキーム(3)

【化5】



【0034】

上記スキーム（3）において、ビオチン（4）とヒドラジド化合物（5）を、カルボジイミド類等のカップリング剤の存在下反応させることによって、末端アミノ化ビオチン化合物（2'）を得ることができる。ヒドラジド化合物（5）の代りに、式： $\text{NH}_2-\text{NH}-\text{CO}-\text{A}'-\text{CO}-\text{NH}-\text{NH}_2$ で表されるジヒドラジド化合物あるいは式： $\text{NH}_2-\text{A}'-\text{NH}_2$ で表されるジアミン化合物（式中、 A' は1～30個の炭素原子を有するヒドロカルビル基、又は、酸素原子、硫黄原子及び窒素原子から選ばれる1～6個のヘテロ原子を有し、かつ1～30個の炭素原子を有するヘテロカルビル基を示す）なども用いることもできる。これらの反応は、スキーム（1）に示したカップリング反応と同様な反応条件下行うことができる。

【0035】

このようにして、式： $\text{P o r}-\text{A}-\text{B i}$ において、 A のスペーサー基の両末端がアミノ基である化合物を合成することができる。 A のスペーサー基がこれ以外の基である化合物は、当業者であれば公知の有機合成手法を用いて合成することができる（Bayer et al., Methods Biochem. Anal. 26 (1980), 1-45参照）。

【0036】

（ヘムたんぱく質の精製法）

試料中に存在するヘムタンパク質の精製は、上記ビオチニル基含有ポルフィリン化合物を用いて、アフィニティーコロマトグラフィーを利用して行う。ここで、「アフィニティーコロマトグラフィー」とは、抗原と抗体、酵素と基質、あるいは受容体とリガンドといった物質間の相互作用（親和性）を利用してすることにより試料（例えば、血清及び血漿等の体液試料、培養上清あるいは遠心上清等）中に含まれる目的物質を分離または精製する方法を意味する。本発明の精製法においては、上記ビオチニル基含有ポルフィリン化合物とヘムタンパク質との特異的親和性と、ビオチニル基とアビジン化合物との特異的親和性を利用することにより、試料中に含まれるヘム結合蛋白質を分離または精製する。本発明のポルフィリン化合物は、公知のアフィニティーコロマトグラフィー技術を用いて種々の態様で試料中に存在するヘムタンパク質を精製することができる。例えば、本発明のポルフィリン化合物とアビジン化合物を結合させてなる担体ビーズを含むヘム

タンパク質の精製キットによって、ヘムタンパク質を精製することができる。

【0037】

本発明の好ましい実施態様によれば、まず、標的ヘムタンパク質を含む試料に、上記ビオチニル基含有ポルフィリン化合物を加え、標的ヘムタンパク質とポルフィリン化合物とを結合させる。次いで、この標的ヘムタンパク質がポルフィリン化合物に結合した化合物（以下、「ヘムタンパク・ポルフィリン複合体」という）に、ビーズ等の担体にアビジン等のアビジン化合物を結合させたもの（以下、「アビジンビーズ」という）を加え、このアビジンビーズにアビジン-ビオチン結合を利用して、ヘムタンパク・ポルフィリン複合体を結合させる。そして、アビジンビーズにヘムタンパク・ポルフィリン複合体が結合したものを公知の手段で回収し、イミダゾール、酸、塩酸グアニジンなどの変性剤等のタンパク質からヘムを脱離させる働きを有している化合物を含む溶液に懸濁させることによって、標的タンパク質を分離、回収することができる。なお、上記担体は、アビジン化合物を結合できる担体であれば特に限定されることはなく、例えば、ベクター・ラボラトリーズ社およびピアス社から市販されているストレプトアビジン磁気ビーズ、ストレプトアビジンアガロース等を用いることができる。また、磁気を帶びた磁気ビーズを用いれば、磁石によって回収が容易となるメリットがある。

【0038】

(ヘムタンパク質用標識化合物及びそれを用いた用途)

上記のようにして得られたビオチニル基含有ポルフィリン化合物は、これ単独で、あるいはこれに標識物質を結合させることによってヘムタンパク質用の標識化合物として用いることができる。ここで、本明細書中、「標識物質」とは、ビオチニル基含有ポルフィリン化合物に物理的あるいは化学的に結合させることによりそれらの存在を検出し易くするために用いられる物質を意味する。具体的には、アビジン、ストレプトアビジン等のアビジン化合物を結合したフルオレスセンシングイソチオシアネート、フィコビリタンパク、希土類金属キレート、ダンシルクロライド若しくはテトラメチルローダミンイソチオシアネート等の蛍光物質；³H、¹⁴C、¹²⁵I若しくは¹³¹I等の放射性同位体などが挙げられる。この中で

、アビジン化合物は入手し易いし、アビジン-ビオチンの特異的結合を利用して簡単にビオチニル基含有ポルフィリン化合物を標識できるので好都合である。

このような標識化合物あるいはこの化合物を含む診断薬を用い、公知の技術を利用して、試料（例えば、血清や血漿等の体液試料、培養上清あるいは遠心上清等）中に含まれるヘムタンパク質を検出、定量することができる。また、このような標識化合物を用いて、ヘムタンパク質の生体内における挙動などを観察することもできる。診断薬は、上記化合物を安定に保存する溶液の形態とすることもできる。試料中に存在するある特定のヘムタンパク質の検出量を、正常値の範囲と比較することによって、その特定のヘムタンパク質が関与している疾患に罹患しているか否か診断することができる。そのようなヘムタンパク質関連疾患として、ヘムオキシゲナーゼ欠損症、バッチ（bach）と称されるヘム結合性転写因子が関与する白血病などが知られている。また、近年、大腸癌などの消化器系の疾患を検査する方法として、消化器官からの出血に起因する糞便中のヒトヘモグロビン（便潜血）の検出が広く行われているが、本発明の診断方法はこのような大腸癌の診断にも利用することができる。

【0039】

(光力学療法 (PDT) 用治療薬)

本発明に係るビオチニル基含有ポルフィリン化合物は、PDT用治療薬として用いることができる。このポルフィリン化合物（有効成分）をPDT用治療薬として用いる場合には、これに薬理学的に許容される担体、賦形剤、希釈剤などを混合し、通常は、注射剤の形態で投与する。製剤中、有効成分は、例えば0.1ないし30重量%、より好ましくは1～5重量%配合される。この治療薬の投与量は、対象患者の症状、年齢、体重などにより異なるが、例えば、1日あたりに投与される有効成分の量は、患者の体重1kgあたり0.05mg～30mgであり、好ましくは0.05mg～5mg、さらに好ましくは、0.05mg～1mgである。なお、有効成分の配合量及び投与量は、上記範囲に制限されることなく、使用する有効成分、担体、賦形剤、希釈剤の種類などに応じて適宜調整される。PDT治療を行う場合は、好ましくは、投与前に、腫瘍が存在する患部組織をアビジンで標識する。このようなアビジン標識は、腫瘍細胞で特異的に発現しているタンパ

ク質（腫瘍マーカー等）に対する抗体を用いることによって行うことができる。そして、患部組織に上記有効成分を含む注射剤を投与する。すると、ビオチンとアビジンとの高い親和性により、その患部組織に部位特異的に必要なポルフィリン化合物を効率良く供給することができる。その後、その患部組織に光を照射し、ポルフィリンを活性化することによって病巣を破壊することができる。照射される光は、そのポルフィリンを活性化するのに適当な波長（例えば、600～790 nm）及び強度（例えば、1～50 J/cm²）を有する。光の照射は、例えば、1分～2時間、好ましくは、10分～600分間行われる。光の照射は、必要に応じて、カテーテルに挿入された光ファイバーなどを用いて行うことができる。

【0040】

【実施例】

以下、本発明を実施例に基づいてより具体的に説明する。

【0041】

実施例 1： ビオチニル基含有ポルフィリン化合物の合成

実験材料として、鉄プロトポルフィリンIXクロリド（ヘミン）はシグマ社から購入したものを用いた。6-ヒドラジドヘキシル-D-ビオチニアミドはベクター・ラボラトリーズ社から購入したものを用いた。

まず、脱水したDMFとDMSOにヘミンと6-ヒドラジドヘキシル-D-ビオチニアミドとを溶解させてそれぞれ6.7 mMおよび2.7 mMとした。20 μlのビオチニヒドラジド溶液と5.6 mgのジシクロヘキシルカルボジイミド（DCC）とを1mLのヘミン溶液に加えた。反応混合物を確かに振り混ぜて暗黒中で3時間、室温でインキュベートした。プロトヘムの2つのプロピオナート基の一つだけをビオチニヒドラジドと結合させるために、約2.5当量の過剰量のヘミンを反応のために用いた。

【0042】

このようにして作成した反応混合物に約5%（v/v）ピリジンを加えてからC18逆相調製用HPLCカラム（ナカラライ・テスク製のCOSMOSIL 5C18-ARI I）にかけた。0.1%TFAの存在下で40～60%アセトニトリル勾

配を用いてビオチニル基含有ポルフィリン化合物（以下、「ビオチンヘム」という）を溶出させた。ビオチンヘムを含有するピーク画分を集めてからすぐに暗黒中で凍結乾燥させた。試料を最少量のDMSOに溶解させ、-80°Cで貯蔵した。試料の純度は、C18逆相分析用HPLCカラム（ナカライ・テスク製のCOSMOSIL 5C18-AR300）を用いて検定した。精製した分子の同定のためにレーザー脱着質量分析法（MALDI/ TOFMS）によって評価を行なった。質量分析の結果を図1示す。

【0043】

この分析によって得られた化合物が約969.4Daの質量を持つことがわかった。これは、プロトヘムの2つのプロピオナート基の一つがビオチンヒドロジドと共に共役しているビオチンヘムの質量の計算値（969.98Da）に対応する。従って、得られた化合物は、前述のスキーム（2）中に示した最終化合物のビオチンヘムであることが確認された。

【0044】

実施例2：ビオチンヘムを用いたヘム蛋白質の精製

マッコウクジラ・ミオグロビン（Springer et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84 (1987), 8961-8965）、設計したグロビン-1（DG1）（Isogai et al., Biochemistry 39 (1999), 5683-5690参照）、ならびに設計した4本螺旋（ヘリックス）束ヘムタンパク質（dA1）をコードする合成遺伝子をpRSET-Cベクター（Invitrogen）にクローン化した。二量体中で4本螺旋束を生成させ、Gibneyらの方法〔（Gibney et al., Biochemistry 37 (1988), 4635-4643）に従つて2螺旋間のbirs-Hisライゲーションによって単量体当たり1ヘムを結合させるように、dA1のアミノ酸配列（ML-KKLREEA-LKLLEEF-KKLLEEH-LKWLEGGGGGG GELLKL-HEELLKK-FEELLKL-AEERLKK-L：配列番号1）を設計した。pUC19にクローン化したマッコウクジラ・ミオグロビンをコードする合成遺伝子（Springer et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84 (1987), 8961-8965）を用いて天然ミオグロビンを含む細胞抽出物を得た。これらのヘムタンパク質をコードしているベクターについては、大腸菌株BL21（DE3）に導入してから、100mg/Lのアンピシリンを加えたTerrificプロス（液体培地）中でIPTGを用いてT

7プロモーターのコントロール下に発現させた。細胞群については、遠心して集めてから10 mM TRIS-HCl, pH 8.0と1 mM EDTAとで洗浄した。生成したペレットは、6M ウレア, 0.5 M NaCl, 1 mM EDTA, および0.1% ODP (octyl glucopyranoside) を含む溶解緩衝液中に懸濁させてから音波破碎処理によって溶解させた。遠心による不溶性画分を除いた後で、上清を集めてTN緩衝液に対して透析した。細胞抽出物中でタンパク質に結合しているほとんどすべてのヘムがこれらの処理過程に取り除かれ、該タンパク質類が再び折り畳まれた。遠心して不溶性画分を除いた後で、Centriprep-10 (Amicon) を用いて該タンパク質類を適切な濃度にまで濃縮した。ビオチン化ヘムを用いて組換えアポヘムタンパク質を精製するための出発物質として、上記のようにして得た細胞抽出物を用いた。

【0045】

前述のようにして得た細胞抽出物に、終濃度10～40 μMとなるように少しずつビオチン化ヘムを加え、その後、4℃で、30分以上インキュベートした。

図2に、人工ヘム蛋白質dA1を含む細胞抽出液にビオチンヘムを加えたときの紫外可視光吸收スペクトル変化を示す。図2において、一番下のスペクトルがビオチンヘムなしのものを示し、下から上へビオチンヘムを段階的に添加することによってヘム結合型dA1濃度が増加していることが分かる。縦軸は吸光度を示す。

【0046】

次いで、遠心して不溶性物質を除いてから、20 mMトリス・塩酸(pH8.0)、500 mMのNaCl及び0.5% (v/v) Tween 20を含む洗浄用緩衝液で事前に洗浄しておいたストレプトアビジン・アガロース(Sigma)またはストレプトアビジン磁石ビーズ(Pierce)を入れたサンプルチューブに該溶液を移した。得られたタンパク質・ビオチン・ヘム・ストレプトアビジン複合体をアガロース複合体の場合は遠心によって、また磁石ビーズ複合体の場合は磁石を用いて回収した。洗浄用緩衝液で該ペレットを二回洗浄してから10Mイミダゾール(pH8.0)でインキュベートして結合タンパク質を溶出させた。アガロースまたは磁石ビーズを取り除いてから該溶液を脱塩して凍結乾燥させた。凍

結乾燥させた試料を少量のTN緩衝液中に溶解させてから15% (w/v) ポリアクリルアミドゲルを用いたSDS-PAGE法によって分析した。図3に、ビオチンヘムによって精製されたヘム蛋白質のSDS-PAGEを示す。図3において、レーン1は分子量マーカー（上から94、67、43、30、20.1、14.4 kDa）、レーン2及び3は、それぞれ、組換えミオグロビンの細胞抽出液及びその精製画分、レーン4及び5は、それぞれ、dA1の細胞抽出液及びその精製画分、そしてレーン6及び7は、それぞれ、DG1の細胞抽出液及びその精製画分を示す。

上記のようにして、マッコウクジラ・ミオグロビン、設計したグロビン (DG1)、または設計した4本螺旋束ヘムタンパク質 (dA1) をそれぞれ含む3種類の試料を調製したが、これらにビオチン化ヘムを添加することによって、これらタンパク質内の結合ヘムに特徴的である強いソレー吸收帯が生じ、この吸収帯によって、生体分子の濃厚混合物中でさえも結合ヘムがタンパク質に効果的に組み込まれていることがわかった。これら混合物からの再構成ヘムタンパク質の回収は、ストレプトアビシン磁石ビーズを使うと容易であったし、他のタンパク質による重大な汚染を生じなかった（図3参照）。

【0047】

比較例1

緩衝液で磁石ビーズを洗浄してからイミダゾールを添加してアポヘムタンパク質を溶出させる代わりに、酸を添加したり、塩酸グアニジンのような変性剤を添加したりする方法によっても該タンパク質を溶出させた。ところがこの場合には、該ビーズにもビオチン化ヘムにも結合しない変性ストレプトアビシン・サブユニットがヘムタンパク質と共に溶出した。ストレプトアビシン・アガロースを用いることによっても該ヘムタンパク質を精製した。ところが、アガロースとタンパク質の非特異的相互作用のために、アガロースを使うと汚染の増加が生じた。

結論として、ビオチン化ヘムは、天然及び人造のヘムタンパク質の検出と精製に有用な試薬であることが分かった。また、上記のように、ビオチン化ヘムの調製は、簡単であるし、天然あるいは人造のヘムタンパク質を用いるその特異的なライゲーションをUV-VIS吸収分光法によってモニターすることも容易であることが確認された。

【0048】

実施例3：ビオチンヘムのミオグロビンへの結合（標識化）

アスコリら (F. Ascoli, M.R. Fanelli, E. Antonini, Preparation and properties of apohemoglobin and reconstituted hemoglobins, Methods Enzymol. 76 (1981), 72-87) に記述してあるメチルエチルケトン抽出法を適用してウマ心臓メトミオグロビンからアポミオグロビンを調製した。10 mMトリス塩酸 (pH 8.0) と 200 mM 塩化ナトリウムとを含む TN 緩衝液に対して 4°C でヘム除去アポ・タンパク質を透析した。遠心によって不溶性の画分を除いた後に、Centriprep10 (Amicon製) を用いて上清を 1~2 mM に濃縮した。ビオチンヘムによるミオグロビンの再構成は、アポミオグロビン溶液にビオチンヘム溶液を、そのタンパク質に対して 0.1~0.2 当量にあたる少量の過剰量ずつ添加して行なった。本混合物を 4°C で 30 分超の時間でインキュベートしてから 20,000 × g で 30 分間遠心した。ビオチンヘム結合ミオグロビンを上清中に集め、UV-VIS 吸収スペクトルを測定したところ、天然メトミオグロビンのそれとほぼ同等に有意な安定性を保持した。

【0049】

なお、ビオチンヘムによって再構成したミオグロビンを TN 緩衝液で 10~2 μ M に希釈し、さらに光路長 1.0 cm の石英キュベットを用いて Hitachi U-3000 分光光度計で UV-VIS 吸収スペクトルを記録した。上記アスコリらの文献に従った分光学的な測定用に第二鉄、デオキシ第一鉄、ならびに第一鉄 CO フォームを調製した。

第二鉄（実線）、デオキシ第一鉄（破線）、ならびに第一鉄 CO フォーム（点線）においてビオチンヘム結合ミオグロビンの UV-VIS 吸収スペクトルを図 4 に示す。これらのスペクトルは、天然ミオグロビンの該スペクトルから区別できなかった。さらに、ビオチンヘム結合ミオグロビンの O₂ 結合能は安定に保たれていたことを確認した。これらの結果から、ミオグロビン中の正常なプロトヘムと同じようにしてビオチンヘムがミオグロビンのヘムポケットに組込まれていることが分かった。

【0050】

【発明の効果】

以上説明したように、本発明によれば、本発明は、生体中の微量ヘムタンパク質の精製を迅速かつ簡便に行うことのできるビオチニル基含有ヘム化合物を提供することができる。また、本発明は、そのようなビオチニル基含有ヘム化合物を用いた、ヘムタンパク質の簡便な精製方法も提供できる。また、本発明によれば、ヘムタンパク質用標識試薬、及びその試薬を用いるヘムタンパク質関連疾患の診断薬をも提供することができる。さらに、本発明によれば、新規な光力学療法用治療薬をも提供することができる。

【0051】**【配列表】****SEQUENCE LISTING**

<110> RIKEN

<120> Biothiyl group-containing porphyrin compound and its use

<130> P03-0029

<140>

<141>

<160> 1

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 63

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 1

Met Leu Lys Lys Leu Arg Glu Glu Ala Leu Lys Leu Leu Glu Glu Phe

1

5

10

15

Lys Lys Leu Leu Glu Glu His Leu Lys Trp Leu Glu Gly Gly Gly

20

25

30

Gly Gly Gly Gly Glu Leu Leu Lys Leu His Glu Glu Leu Leu Lys Lys

35

40

45

Phe Glu Glu Leu Leu Lys Leu Ala Glu Glu Arg Leu Lys Lys Leu

50

55

60

【図面の簡単な説明】

【図1】図1は、実施例1で得られたビオチニル基含有ヘム化合物の質量分析結果を示す。

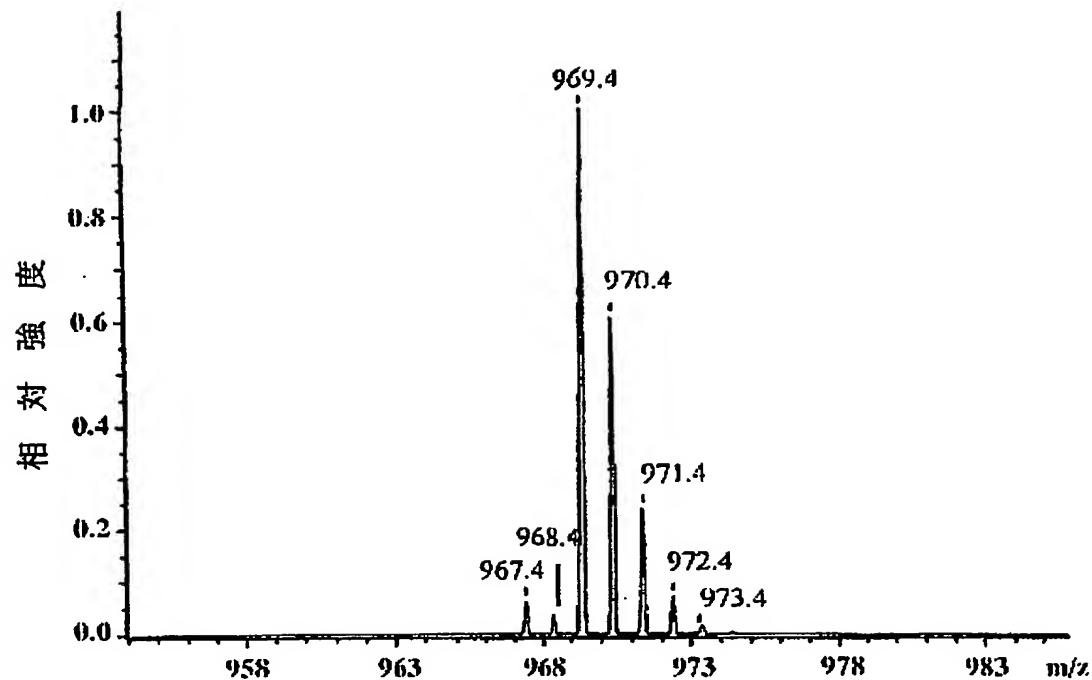
【図2】図2は、実施例2において、人工ヘム蛋白質dA1を含む細胞抽出液にビオチンヘムを加えたときの紫外可視光吸收スペクトル変化を示す。

【図3】図3は、実施例2における、ビオチンヘムによって精製されたヘム蛋白質のSDS-PAGEを示す。

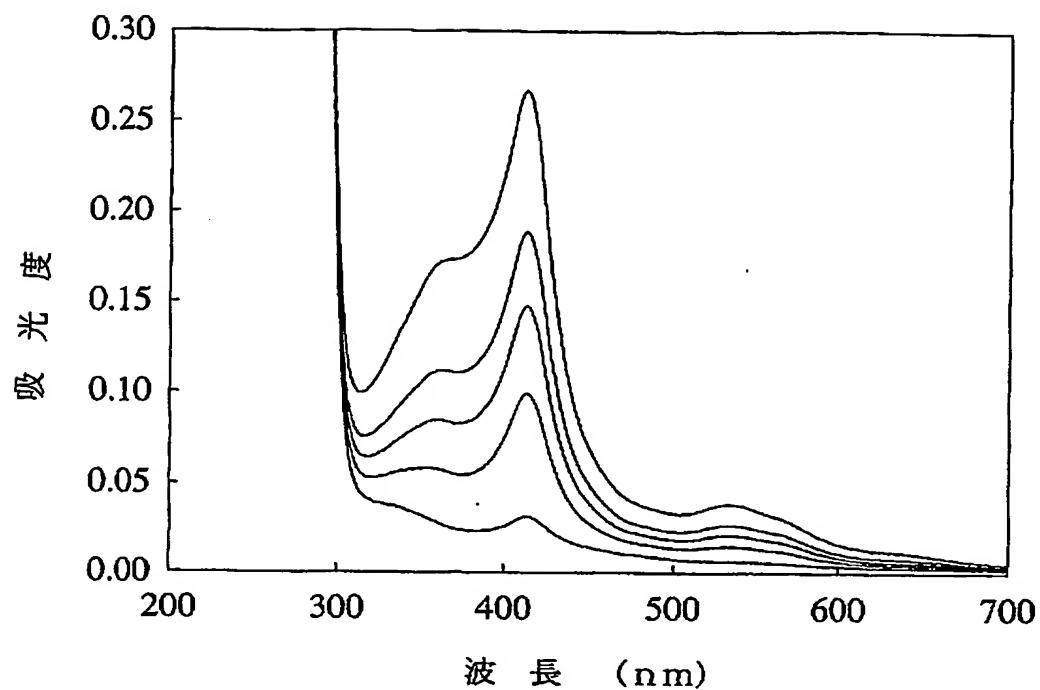
【図4】図4は、実施例3における、ビオチンヘムによって再構成されたミオグロビンのUV-VIS吸収スペクトルを示す。

【書類名】 図面

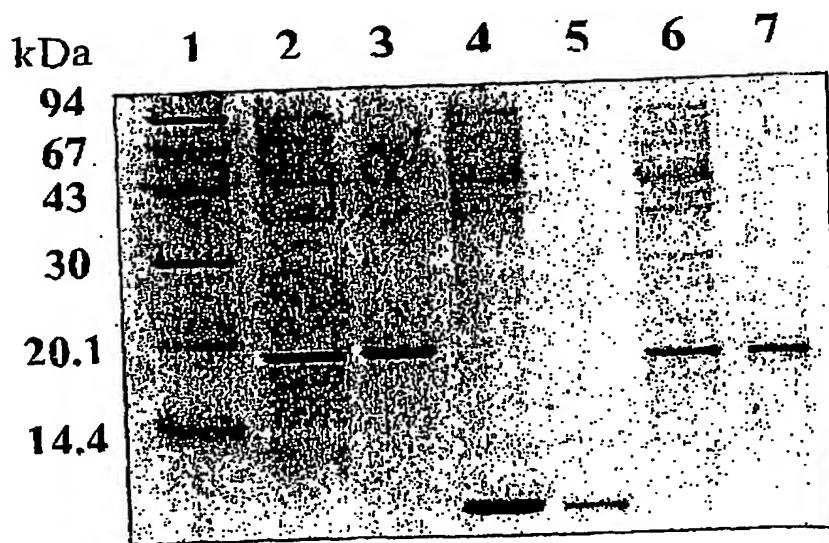
【図1】



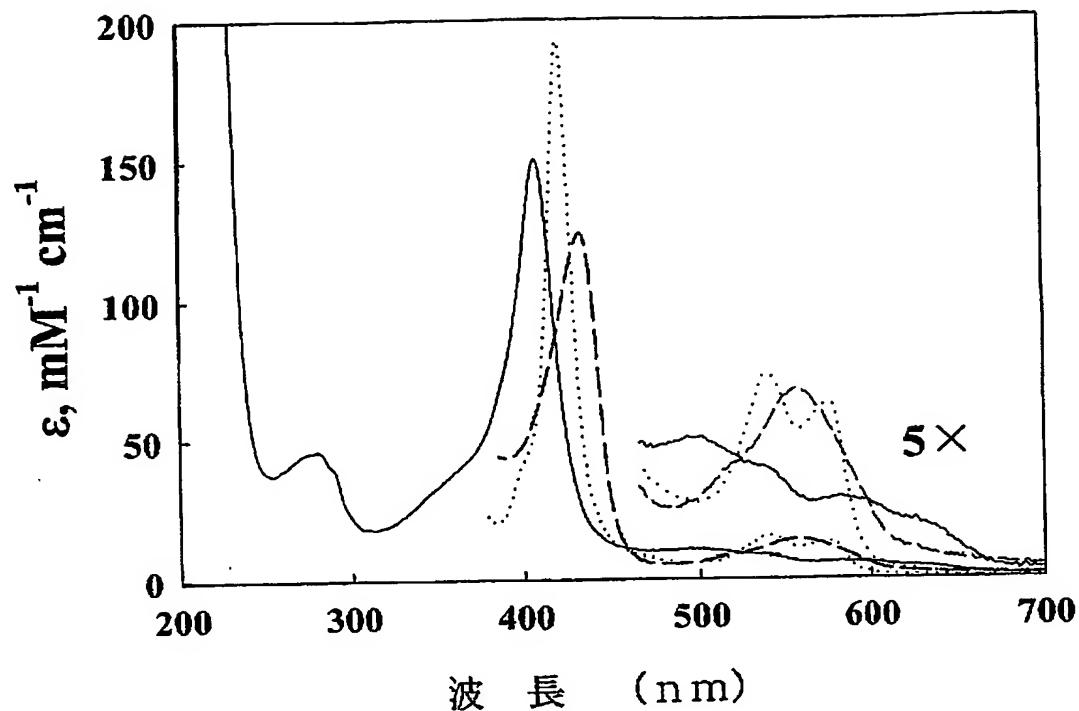
【図2】



【図3】



【図4】

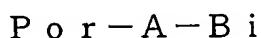


【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 生体中の微量ヘムタンパク質の精製と標識を迅速かつ簡便に行うことのできるビオチニル基含有ポルフィリン化合物、そのようなビオチニル基含有ポルフィリン化合物を用いたヘムタンパク質の精製方法、ヘムタンパク質用標識試薬、その試薬を用いるヘムタンパク質関連疾患の診断薬、さらには光力学療法用治療薬等を提供する。

【解決手段】 本発明の課題は、下記式（I）：



（式中、 $\text{P}_{\text{o}}\text{r}$ は金属錯体を形成してもよいポルフィリン残基； B_{i} は置換されてもよいビオチニル基；そして、Aは1～20個の炭素原子を有するヒドロカルビル基、又は酸素原子、硫黄原子及び窒素原子から選ばれる1～5個のヘテロ原子を有し、かつ合計で1～20個の原子を有するヘテロヒドロカルビル基を示す）で表されるビオチニル基含有ポルフィリン化合物、これを用いたヘムタンパク質の精製方法、ヘムタンパク質用標識試薬、これを用いたヘムタンパク質関連疾患の診断薬、光力学療法用治療薬などによって解決される。

【選択図】 なし

【書類名】 出願人名義変更届（一般承継）
【提出日】 平成15年12月 1日
【あて先】 特許庁長官殿
【事件の表示】
 【出願番号】 特願2003-116232
【承継人】
 【識別番号】 503359821
 【住所又は居所】 埼玉県和光市広沢2番1号
 【氏名又は名称】 独立行政法人理化学研究所
【承継人代理人】
 【識別番号】 100075812
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 吉武 賢次
【提出物件の目録】
 【物件名】 権利の承継を証明する書面 1
 【援用の表示】 平成15年11月20日提出の特許第1575167号外98件
 にかかる一般承継による特許権の移転登録申請書
 【物件名】 登記簿謄本 1
 【援用の表示】 平成15年11月20日提出の特許第1575167号外98件
 にかかる一般承継による特許権の移転登録申請書
 【物件名】 委任状 1

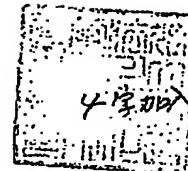
【物件名】

委任状

【添付書類】



委 任 状



私は、

識別番号 100075812 弁理士 吉 武 寧 次 氏

を代理人と定めて下記事項を委任する。

95434

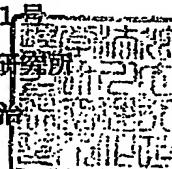
1. 別紙目録に記載の特許出願に関する出願人名義変更届をする件
2. 上記各項の手続を処理するため復代理人を選任及び解任する件

以 上

平成 15 年 11 月 13 日

住所又は居所

埼玉県和光市広沢2番1号



氏名又は名称

独立行政法人 理化学研究所

代表者

理事長 野 依 良 清

目録(1)

1. 特願昭63-235737	51. 特願平07-327372
2. 特願平05-044143	52. 特願平08-000652
3. 特願平05-127257	53. 特願平08-026368
4. 特願平05-127258	54. 特願平08-030850
5. 特願平05-213675	55. 特願平08-041279
6. 特願平05-306164	56. 特願平08-045903
7. 特願平05-328611	57. 特願平08-051604
8. 特願平05-336746	58. 特願平08-065715
9. 特願平06-035100	59. 特願平08-070071
10. 特願平06-061792	60. 特願平08-105667
11. 特願平06-061793	61. 特願平08-107784
12. 特願平06-069150	62. 特願平08-116473
13. 特願平06-097098	63. 特願平08-123475
14. 特願平06-111624	64. 特願平08-127005
15. 特願平06-121100	65. 特願平08-131746
16. 特願平06-145908	66. 特願平08-132846
17. 特願平06-158670	67. 特願平08-132854
18. 特願平06-158671	68. 特願平08-142676
19. 特願平06-165751	69. 特願平08-158078
20. 特願平06-165752	70. 特願平08-167401
21. 特願平06-181857	71. 特願平08-196331
22. 特願平06-235742	72. 特願平08-197050
23. 特願平06-238603	73. 特願平08-197051
24. 特願平06-244764	74. 特願平08-211948
25. 特願平06-248486	75. 特願平08-216506
26. 特願平06-252942	76. 特願平08-216508
27. 特願平06-268723	77. 特願平08-222352
28. 特願平06-293933	78. 特願平08-231066
29. 特願平06-301372	79. 特願平08-233442
30. 特願平06-323795	80. 特願平08-236685
31. 特願平06-324490	81. 特願平08-251410
32. 特願平06-507966 (不 ^記 2002-12420) 82.	特願平08-262051
33. 特願平07-007185	83. 特願平08-302896
34. 特願平07-069255	84. 特願平08-308335
35. 特願平07-082880	85. 特願平08-308336
36. 特願平07-083142	86. 特願平08-311467
37. 特願平07-117933	87. 特願平08-315093
38. 特願平07-133487	88. 特願平08-317622
39. 特願平07-205141	89. 特願平08-320241
40. 特願平07-214659	90. 特願平08-506395
41. 特願平07-217276	91. 特願平09-002295
42. 特願平07-236185	92. 特願平09-010602
43. 特願平07-240684	93. 特願平09-019968
44. 特願平07-249244	94. 特願平09-019969
45. 特願平07-259922	95. 特願平09-019971
46. 特願平07-282716	96. 特願平09-024890
47. 特願平07-302793	97. 特願平09-028982
48. 特願平07-306004	98. 特願平09-046824
49. 特願平07-311711	99. 特願平09-049254
50. 特願平07-311715	100. 特願平09-053478

目録(2)

101. 特願平09-054595	151. 特願平10-045434
102. 特願平09-056654	152. 特願平10-049499
103. 特願平09-057342	153. 特願平10-049867
104. 特願平09-058774	154. 特願平10-051489
105. 特願平09-067611	155. 特願平10-051490
106. 特願平09-074394	156. 特願平10-051491
107. 特願平09-080480	157. 特願平10-051492
108. 特願平09-082965	158. 特願平10-051493
109. 特願平09-091523	159. 特願平10-060740
110. 特願平09-091591	160. 特願平10-060741
111. 特願平09-091694	161. 特願平10-061895
112. 特願平09-096968	162. 特願平10-076139
113. 特願平09-099061	163. 特願平10-085207
114. 特願平09-099109	164. 特願平10-085208
115. 特願平09-104093	165. 特願平10-103083
116. 特願平09-119730	166. 特願平10-103115
117. 特願平09-129068	167. 特願平10-103671
118. 特願平09-134525	168. 特願平10-104093
119. 特願平09-147964	169. 特願平10-113493
120. 特願平09-155364	170. 特願平10-116378
121. 特願平09-159963	171. 特願平10-121456
122. 特願平09-163630	172. 特願平10-127520
123. 特願平09-163631	173. 特願平10-136198
124. 特願平09-171924	174. 特願平10-149603
125. 特願平09-175896	175. 特願平10-150494
126. 特願平09-180423	176. 特願平10-151245
127. 特願平09-189436	177. 特願平10-155838
128. 特願平09-198201	178. 特願平10-155841
129. 特願平09-208866	179. 特願平10-156104
130. 特願平09-221067	180. 特願平10-156108
131. 特願平09-228345	181. 特願平10-198313
132. 特願平09-230870	182. 特願平10-200260
133. 特願平09-253740	183. 特願平10-217132
134. 特願平09-256795	184. 特願平10-217180
135. 特願平09-271782	185. 特願平10-222837
136. 特願平09-291995	186. 特願平10-227939
137. 特願平09-297084	187. 特願平10-229591
138. 特願平09-307627	188. 特願平10-232520
139. 特願平09-308597	189. 特願平10-232590
140. 特願平09-309848	190. 特願平10-236009
141. 特願平09-327140	191. 特願平10-237485
142. 特願平09-327609	192. 特願平10-238144
143. 特願平09-328742	193. 特願平10-245293
144. 特願平09-360327	194. 特願平10-250598
145. 特願平10-002030	195. 特願平10-250611
146. 特願平10-010471	196. 特願平10-252128
147. 特願平10-014152	197. 特願平10-260347
148. 特願平10-015690	198. 特願平10-260416
149. 特願平10-024892	199. 特願平10-268791
150. 特願平10-043335	200. 特願平10-269859

目録(3)

201. 特願平10-272529	251. 特願平11-135137
202. 特願平10-280351	252. 特願平11-135482
203. 特願平10-308533	253. 特願平11-143429
204. 特願平10-309765	254. 特願平11-144005
205. 特願平10-311673	255. 特願平11-147097
206. 特願平10-311674	256. 特願平11-151099
207. 特願平10-311675	257. 特願平11-166247
208. 特願平10-314856	258. 特願平11-173839
209. 特願平10-315751	259. 特願平11-179278
210. 特願平10-338896	260. 特願平11-186052
211. 特願平10-338897	261. 特願平11-193235
212. 特願平10-338898	262. 特願平11-224269
213. 特願平10-338899	263. 特願平11-225060
214. 特願平10-352428	264. 特願平11-225832
215. 特願平10-354665	265. 特願平11-225839
216. 特願平10-363297	266. 特願平11-226176
217. 特願平10-363329	267. 特願平11-234800
218. 特願平10-506788	268. 特願平11-240325
219. 特願平10-532832	269. 特願平11-240910
220. 特願平10-535583	270. 特願平11-241737
221. 特願平11-008183	271. 特願平11-242438
222. 特願平11-013380	272. 特願平11-242490
223. 特願平11-015176	273. 特願平11-253851
224. 特願平11-031724	274. 特願平11-260947
225. 特願平11-035776	275. 特願平11-277759
226. 特願平11-046372	276. 特願平11-278976
227. 特願平11-055835	277. 特願平11-279324
228. 特願平11-055867	278. 特願平11-281632
229. 特願平11-055930	279. 特願平11-303976
230. 特願平11-056957	280. 特願平11-309616
231. 特願平11-057381	281. 特願平11-315036
232. 特願平11-057749	282. 特願平11-321282
233. 特願平11-058103	283. 特願平11-336079
234. 特願平11-061079	284. 特願平11-346467
235. 特願平11-061080	285. 特願平11-354563
236. 特願平11-064193	286. 特願平11-360274
237. 特願平11-064372	287. 特願平11-365899
238. 特願平11-064506	288. 特願平11-373483
239. 特願平11-065136	289. 特願平11-510791
240. 特願平11-074385	290. 特願平11-515324
241. 特願平11-081225	291. 特願2000-001783
242. 特願平11-090383	292. 特願2000-005221
243. 特願平11-091875	293. 特願2000-009363
244. 特願平11-103231	294. 特願2000-010516
245. 特願平11-104509	295. 特願2000-011147
246. 特願平11-106920	296. 特願2000-011623
247. 特願平11-124187	297. 特願2000-016518
248. 特願平11-130771	298. 特願2000-016622
249. 特願平11-130814	299. 特願2000-017112
250. 特願平11-130815	300. 特願2000-018612

目録(4)

301. 特願2000-019195	351. 特願2000-141763
302. 特願2000-019528	352. 特願2000-148843
303. 特願2000-020067	353. 特願2000-152455
304. 特願2000-030321	354. 特願2000-152469
305. 特願2000-034109	355. 特願2000-154484
306. 特願2000-039082	356. 特願2000-161895
307. 特願2000-040355	357. 特願2000-163122
308. 特願2000-041927	358. 特願2000-164584
309. 特願2000-041929	359. 特願2000-179723
310. 特願2000-045318	360. 特願2000-181281
311. 特願2000-045855	361. 特願2000-184259
312. 特願2000-051488	362. 特願2000-184295
313. 特願2000-051650	363. 特願2000-191007
314. 特願2000-052040	364. 特願2000-191265
315. 特願2000-053707	365. 特願2000-192332
316. 特願2000-054949	366. 特願2000-193817
317. 特願2000-056093	367. 特願2000-195384
318. 特願2000-056879	368. 特願2000-196991
319. 特願2000-057564	369. 特願2000-197022
320. 特願2000-057565	370. 特願2000-202801
321. 特願2000-057566	371. 特願2000-216457
322. 特願2000-058133	372. 特願2000-223714
323. 特願2000-058282	373. 特願2000-224970
324. 特願2000-062316	374. 特願2000-225486
325. 特願2000-064142	375. 特願2000-225864
326. 特願2000-064209	376. 特願2000-225978
327. 特願2000-071119	377. 特願2000-226361
328. 特願2000-076122	378. 特願2000-229191
329. 特願2000-085874	379. 特願2000-230551
330. 特願2000-089078	380. 特願2000-237165
331. 特願2000-092693	381. 特願2000-237166
332. 特願2000-100395	382. 特願2000-237533
333. 特願2000-105139	383. 特願2000-246309
334. 特願2000-105917	384. 特願2000-248331
335. 特願2000-107160	385. 特願2000-249232
336. 特願2000-108409	386. 特願2000-256149
337. 特願2000-109638	387. 特願2000-257080
338. 特願2000-109954	388. 特願2000-257083
339. 特願2000-118361	389. 特願2000-260030
340. 特願2000-120874	390. 特願2000-261233
341. 特願2000-123634	391. 特願2000-264743
342. 特願2000-128431	392. 特願2000-265344
343. 特願2000-131049	393. 特願2000-278502
344. 特願2000-131050	394. 特願2000-279557
345. 特願2000-131745	395. 特願2000-292422
346. 特願2000-134427	396. 特願2000-292832
347. 特願2000-136551	397. 特願2000-299812
348. 特願2000-136572	398. 特願2000-307464
349. 特願2000-138977	399. 特願2000-308248
350. 特願2000-141566	400. 特願2000-309581

目録(5)

401.	特願2000-319775	451.	特願2001-071435
402.	特願2000-322056	452.	特願2001-072650
403.	特願2000-333311	453.	特願2001-072668
404.	特願2000-334686	454.	特願2001-072963
405.	特願2000-334969	455.	特願2001-073028
406.	特願2000-343912	456.	特願2001-074964
407.	特願2000-347398	457.	特願2001-074965
408.	特願2000-347865	458.	特願2001-077257
409.	特願2000-358121	459.	特願2001-078671
410.	特願2000-368566	460.	特願2001-084173
411.	特願2000-374626	461.	特願2001-089541
412.	特願2000-375090	462.	特願2001-091911
413.	特願2000-378421	463.	特願2001-092337
414.	特願2000-378942	464.	特願2001-116171
415.	特願2000-378950	465.	特願2001-124294
416.	特願2000-384771	466.	特願2001-124452
417.	特願2000-387016	467.	特願2001-127575
418.	特願2000-394815	468.	特願2001-127576
419.	特願2000-396445	469.	特願2001-135357
420.	特願2000-399940	470.	特願2001-137087
421.	特願2000-400336	471.	特願2001-138103
422.	特願2000-401110	472.	特願2001-142583
423.	特願2000-401245	473.	特願2001-147081
424.	特願2000-401258	474.	特願2001-152364
425.	特願2000-503838	475.	特願2001-152379
426.	特願2000-571733	476.	特願2001-153447
427.	特願2000-571943	477.	特願2001-155572
428.	特願2000-602588	478.	特願2001-163740
429.	特願2000-602900	479.	特願2001-164819
430.	特願2000-618709	480.	特願2001-164997
431.	特願2001-003476	481.	特願2001-165133
432.	特願2001-005615	482.	特願2001-167910
433.	特願2001-007979	483.	特願2001-168784
434.	特願2001-016626	484.	特願2001-171705
435.	特願2001-025030	485.	特願2001-173331
436.	特願2001-037141	486.	特願2001-174421
437.	特願2001-037147	487.	特願2001-174553
438.	特願2001-042501	488.	特願2001-175898
439.	特願2001-044933	489.	特願2001-178169
440.	特願2001-047762	490.	特願2001-179858
441.	特願2001-050645	491.	特願2001-180552
442.	特願2001-053550	492.	特願2001-180554
443.	特願2001-054717	493.	特願2001-187735
444.	特願2001-059115	494.	特願2001-197185
445.	特願2001-059892	495.	特願2001-197897
446.	特願2001-060848	496.	特願2001-200854
447.	特願2001-062703	497.	特願2001-201356
448.	特願2001-065799	498.	特願2001-202971
449.	特願2001-065917	499.	特願2001-203089
450.	特願2001-068285	500.	特願2001-206505

目録(6)

501.	特願2001-206522	551.	特願2001-325367
502.	特願2001-206523	552.	特願2001-326872
503.	特願2001-209305	553.	特願2001-327853
504.	特願2001-212947	554.	特願2001-329023
505.	特願2001-216505	555.	特願2001-332168
506.	特願2001-220219	556.	特願2001-337467
507.	特願2001-226176	557.	特願2001-339396
508.	特願2001-228287	558.	特願2001-339593
509.	特願2001-228374	559.	特願2001-346035
510.	特願2001-235412	560.	特願2001-347316
511.	特願2001-235747	561.	特願2001-347637
512.	特願2001-238951	562.	特願2001-349614
513.	特願2001-241023	563.	特願2001-351730
514.	特願2001-243930	564.	特願2001-352189
515.	特願2001-246642	565.	特願2001-353038
516.	特願2001-249976	566.	特願2001-358446
517.	特願2001-254377	567.	特願2001-358581
518.	特願2001-254378	568.	特願2001-359710
519.	特願2001-255589	569.	特願2001-374928
520.	特願2001-256576	570.	特願2001-376591
521.	特願2001-257188	571.	特願2001-378757
522.	特願2001-261158	572.	特願2001-380473
523.	特願2001-266004	573.	特願2001-382537
524.	特願2001-266069	574.	特願2001-382539
525.	特願2001-266454	575.	特願2001-382599
526.	特願2001-267194	576.	特願2001-385258
527.	特願2001-267379	577.	特願2001-385512
528.	特願2001-267863	578.	特願2001-385513
529.	特願2001-272977	579.	特願2001-385538
530.	特願2001-273964	580.	特願2001-388116
531.	特願2001-276053	581.	特願2001-390122
532.	特願2001-279406	582.	特願2001-392087
533.	特願2001-280319	583.	特願2001-392088
534.	特願2001-285145	584.	特願2001-395196
535.	特願2001-291059	585.	特願2001-396120
536.	特願2001-292223	586.	特願2001-397762
537.	特願2001-292224	587.	特願2001-397998
538.	特願2001-293000	588.	特願2001-401139
539.	特願2001-293054	589.	特願2001-515803
540.	特願2001-293936	590.	特願2001-523852
541.	特願2001-294013	591.	特願2001-557672
542.	特願2001-298140	592.	特願2002-000993
543.	特願2001-298402	593.	特願2002-005746
544.	特願2001-307340	594.	特願2002-010344
545.	特願2001-309501	595.	特願2002-011558
546.	特願2001-309508	596.	特願2002-019752
547.	特願2001-309984	597.	特願2002-020329
548.	特願2001-310554	598.	特願2002-022499
549.	特願2001-313430	599.	特願2002-028046
550.	特願2001-319360	600.	特願2002-028109

目録(7)

601. 特願2002-040151	651. 特願2002-162157
602. 特願2002-042829	652. 特願2002-162211
603. 特願2002-044340	653. 特願2002-162365
604. 特願2002-044640	654. 特願2002-167759
605. 特願2002-046188	655. 特願2002-170068
606. 特願2002-047799	656. 特願2002-170902
607. 特願2002-053190	657. 特願2002-176435
608. 特願2002-053575	658. 特願2002-176583
609. 特願2002-055272	659. 特願2002-183722
610. 特願2002-057253	660. 特願2002-185966
611. 特願2002-057565	661. 特願2002-187362
612. 特願2002-057935	662. 特願2002-187957
613. 特願2002-057963	663. 特願2002-188281
614. 特願2002-066249	664. 特願2002-189265
615. 特願2002-070624	665. 特願2002-194627
616. 特願2002-070987	666. 特願2002-197812
617. 特願2002-071924	667. 特願2002-201443
618. 特願2002-074902	668. 特願2002-201575
619. 特願2002-078184	669. 特願2002-202118
620. 特願2002-081467	670. 特願2002-205814
621. 特願2002-081502	671. 特願2002-205825
622. 特願2002-083081	672. 特願2002-217714
623. 特願2002-084139	673. 特願2002-221188
624. 特願2002-085017	674. 特願2002-225469
625. 特願2002-087342	675. 特願2002-225724
626. 特願2002-094681	676. 特願2002-226859
627. 特願2002-095132	677. 特願2002-227286
628. 特願2002-095389	678. 特願2002-229686
629. 特願2002-100431	679. 特願2002-230562
630. 特願2002-106561	680. 特願2002-235294
631. 特願2002-119320	681. 特願2002-235737
632. 特願2002-120371	682. 特願2002-236838
633. 特願2002-123347	683. 特願2002-237058
634. 特願2002-128854	684. 特願2002-237092
635. 特願2002-133717	685. 特願2002-248946
636. 特願2002-133749	686. 特願2002-253322
637. 特願2002-134313	687. 特願2002-253689
638. 特願2002-141187	688. 特願2002-253697
639. 特願2002-141438	689. 特願2002-254096
640. 特願2002-142260	690. 特願2002-257924
641. 特願2002-149471	691. 特願2002-260788
642. 特願2002-149931	692. 特願2002-261499
643. 特願2002-150541	693. 特願2002-264969
644. 特願2002-154688	694. 特願2002-267114
645. 特願2002-154695	695. 特願2002-268987
646. 特願2002-154823	696. 特願2002-270917
647. 特願2002-158237	697. 特願2002-271375
648. 特願2002-158352	698. 特願2002-271473
649. 特願2002-160277	699. 特願2002-273996
650. 特願2002-162148	700. 特願2002-274469

目録(8)

701. 特願2002-276051	751. 特願2003-012738
702. 特願2002-282746	752. 特願2003-012774
703. 特願2002-286487	753. 特願2003-015968
704. 特願2002-289209	754. 特願2003-016044
705. 特願2002-295332	755. 特願2003-016940
706. 特願2002-296911	756. 特願2003-017397
707. 特願2002-299429	757. 特願2003-021499
708. 特願2002-301875	758. 特願2003-024347
709. 特願2002-303838	759. 特願2003-024620
710. 特願2002-312131	760. 特願2003-025277
711. 特願2002-320102	761. 特願2003-027647
712. 特願2002-320704	762. 特願2003-027648
713. 特願2002-325909	763. 特願2003-031882
714. 特願2002-325920	764. 特願2003-032932
715. 特願2002-332232	765. 特願2003-038206
716. 特願2002-339344	766. 特願2003-040642
717. 特願2002-339392	767. 特願2003-043961
718. 特願2002-339541	768. 特願2003-050153
719. 特願2002-339551	769. 特願2003-050446
720. 特願2002-341195	770. 特願2003-052520
721. 特願2002-343807	771. 特願2003-052602
722. 特願2002-344279	772. 特願2003-052613
723. 特願2002-345597	773. 特願2003-052877
724. 特願2002-347401	774. 特願2003-053023
725. 特願2002-348760	775. 特願2003-054182
726. 特願2002-349042	776. 特願2003-054798
727. 特願2002-354594	777. 特願2003-054799
728. 特願2002-357768	778. 特願2003-054846
729. 特願2002-357900	779. 特願2003-054847
730. 特願2002-358019	780. 特願2003-054848
731. 特願2002-358967	781. 特願2003-054849
732. 特願2002-360972	782. 特願2003-055452
733. 特願2002-360975	783. 特願2003-056628
734. 特願2002-368112	784. 特願2003-081426
735. 特願2002-376555	785. 特願2003-063532
736. 特願2002-376774	786. 特願2003-065013
737. 特願2002-376831	787. 特願2003-071028
738. 特願2002-379214	788. 特願2003-072979
739. 特願2002-380624	789. 特願2003-074168
740. 特願2002-381888	790. 特願2003-076107
741. 特願2002-382170	791. 特願2003-078999
742. 特願2002-383870	792. 特願2003-079598
743. 特願2002-521644	793. 特願2003-079613
744. 特願2002-532458	794. 特願2003-082466
745. 特願2002-546564	795. 特願2003-083318
746. 特願2002-548185	796. 特願2003-083433
747. 特願2002-570743	797. 特願2003-083480
748. 特願2003-003450	798. 特願2003-085193
749. 特願2003-012550	799. 特願2003-089026
750. 特願2003-012694	800. 特願2003-090331

目録(9)

801. 特願2003-091446	851. 特願2003-127135
802. 特願2003-092654	852. 特願2003-127150
803. 特願2003-093642	853. 特願2003-128818
804. 特願2003-094272	854. 特願2003-128897
805. 特願2003-094719	855. 特願2003-129347
806. 特願2003-095770	856. 特願2003-131313
807. 特願2003-095884	857. 特願2003-132280
808. 特願2003-095885	858. 特願2003-132605
809. 特願2003-095886	859. 特願2003-132806
810. 特願2003-095904	860. 特願2003-135591
811. 特願2003-097283	861. 特願2003-136445
812. 特願2003-097327	862. 特願2003-139397
813. 特願2003-101917	863. 特願2003-140684
814. 特願2003-104928	864. 特願2003-142303
815. 特願2003-105362	865. 特願2003-143932
816. 特願2003-107267	866. 特願2003-145221
817. 特願2003-107268	867. 特願2003-145390
818. 特願2003-107647	868. 特願2003-147820
819. 特願2003-107885	869. 特願2003-150690
820. 特願2003-109575	870. 特願2003-153014
821. 特願2003-115750	871. 特願2003-153015
822. 特願2003-115793	872. 特願2003-153016
823. 特願2003-115847	873. 特願2003-153985
824. 特願2003-115888	874. 特願2003-154009
825. 特願2003-116232	875. 特願2003-154841
826. 特願2003-116895	876. 特願2003-155397
827. 特願2003-118161	877. 特願2003-155407
828. 特願2003-118186	878. 特願2003-158017
829. 特願2003-119749	879. 特願2003-161005
830. 特願2003-119930	880. 特願2003-164126
831. 特願2003-120934	881. 特願2003-170051
832. 特願2003-121233	882. 特願2003-170324
833. 特願2003-121261	883. 特願2003-170325
834. 特願2003-121273	884. 特願2003-170326
835. 特願2003-121780	885. 特願2003-170327
836. 特願2003-122245	886. 特願2003-170328
837. 特願2003-123984	887. 特願2003-170329
838. 特願2003-124654	888. 特願2003-170330
839. 特願2003-124655	889. 特願2003-170573
840. 特願2003-124826	890. 特願2003-171576
841. 特願2003-124829	891. 特願2003-171619
842. 特願2003-124833	892. 特願2003-172898
843. 特願2003-124835	893. 特願2003-175819
844. 特願2003-125388	894. 特願2003-177298
845. 特願2003-125403	895. 特願2003-180198
846. 特願2003-125405	896. 特願2003-182958
847. 特願2003-127090	897. 特願2003-192763
848. 特願2003-127093	898. 特願2003-192775
849. 特願2003-127109	899. 特願2003-194837
850. 特願2003-127130	900. 特願2003-197229

目録(10)

901. 特願2003-198340	951. 特願2003-338191
902. 特願2003-204075	952. 特願2003-339542
903. 特願2003-205349	953. 特願2003-340181
904. 特願2003-205710	954. 特願2003-342519
905. 特願2003-206546	
906. 特願2003-207698	
907. 特願2003-207771	
908. 特願2003-207772	
909. 特願2003-207850	
910. 特願2003-270049	
911. 特願2003-271473	
912. 特願2003-272421	
913. 特願2003-275055	
914. 特願2003-277958	
915. 特願2003-279130	
916. 特願2003-283972	
917. 特願2003-284055	
918. 特願2003-286640	
919. 特願2003-289138	
920. 特願2003-293912	
921. 特願2003-296474	
922. 特願2003-298558	
923. 特願2003-299424	
924. 特願2003-303979	
925. 特願2003-304452	
926. 特願2003-304453	
927. 特願2003-305689	
928. 特願2003-305844	
929. 特願2003-306137	
930. 特願2003-307564	
931. 特願2003-313014	
932. 特願2003-315355	
933. 特願2003-318801	
934. 特願2003-321497	
935. 特願2003-322948	
936. 特願2003-324974	
937. 特願2003-326510	
938. 特願2003-327645	
939. 特願2003-327907	
940. 特願2003-328600	
941. 特願2003-328840	
942. 特願2003-330418	
943. 特願2003-330569	
944. 特願2003-331848	
945. 特願2003-332756	
946. 特願2003-333798	
947. 特願2003-333932	
948. 特願2003-334036	
949. 特願2003-334083	
950. 特願2003-336365	

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2003-116232
受付番号	20308550818
書類名	出願人名義変更届（一般承継）
担当官	関 浩次 7475
作成日	平成16年 3月17日

<認定情報・付加情報>

【提出された物件の記事】

【提出物件名】	委任状（代理権を証明する書面）	1
---------	-----------------	---

特願 2003-116232

出願人履歴情報

識別番号

[000006792]

1. 変更年月日

1990年 8月28日

[変更理由]

新規登録

住 所

埼玉県和光市広沢2番1号

氏 名

理化学研究所

特願 2003-116232

出願人履歴情報

識別番号

[503359821]

1. 変更年月日

2003年10月 1日

[変更理由]

新規登録
埼玉県和光市広沢2番1号
独立行政法人理化学研究所

住所

氏名